



TITLE:

局所脳血流量および脳エネルギー代謝の観点からみた中大脳動脈一時遮断による局所脳虚血に対する血流再開の意義に関する実験的研究

AUTHOR(S):

三宅, 英則

CITATION:

三宅, 英則. 局所脳血流量および脳エネルギー代謝の観点からみた中大脳動脈一時遮断による局所脳虚血に対する血流再開の意義に関する実験的研究. 日本外科宝函 1984, 53(2): 353-370

ISSUE DATE:

1984-03-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208769>

RIGHT:

局所脳血流量および脳エネルギー代謝の観点からみた
中大脳動脈一時遮断による局所脳虚血に対する
血流再開の意義に関する実験的研究

京都大学医学部脳神経外科学教室 (指導: 半田 肇教授)

三 宅 英 則

[原稿受付・昭和58年11月14日]

Experimental Studies on the Effects of Recirculation on
Focal Cerebral Ischemia, Following to Occlusion of
the Middle Cerebral Artery: with Respects to
Regional Cerebral Blood Flow and Brain
Energy Metabolism

HIDENORI MIYAKE

Department of Neurosurgery, Faculty of medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

Following to occlusion of the main trunk of cerebral artery, the occurrence of cerebral infarction depends on the degree of reduction in cerebral blood flow and energy metabolism. Thus, using monkeys, cats, and rats, the effects of recirculation on the temporary cerebral ischemia following the middle cerebral arterial (MCA) occlusion were studied from the viewpoints of the regional cerebral blood flow (rCBF), brain energy metabolism, and brain water distribution. And the effects of CoQ_{10} on acute recirculation was also studied.

In the first experiment, the threshold of the rCBF of the cerebral cortex for the occurrence of infarction following a 2-hour period of the MCA occlusion was determined using 10 monkeys. The MCA was clipped by transorbital approach and the clip was removed after 2 hours occlusion. In two monkeys, there was no infarction. In five monkeys, small- or medium-sized infarctions were observed. After 7 days, the monkeys were prepared by perfusion fixation and sacrificed. In three monkeys, large infarctions were observed in the territory of the MCA. These infarctions occupied the basal ganglion, internal capsule and extended broadly to the cerebral cortex; these monkeys died within 48 hours after recirculation. The mean rCBF prior to MCA occlusion was 70.7 ± 4.79 ml/100 g min (mean \pm SE). In the dead group, the cortical rCBF during the MCA

Key Words: Cerebral ischemia, Reperfusion, Regional cerebral blood flow, Brain energy metabolism, Brain edema.

索引語: 脳虚血, 血流再開, 局所脳血流量, 脳エネルギー代謝, 脳浮腫.

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

occlusion was $7.5-10.0$ (8.61 ± 0.74) ml/100 g min, and in the survived group, it was $9.9-47.7$ (20.2 ± 4.83) ml/100 g min. From this experiment, the threshold of the cortical rCBF for infarction was considered to be about 10 ml/100 g min following a 2-hour MCA occlusion in monkey.

In the second experiment, the brain energy metabolism during ischemic and post-ischemic periods were measured in vivo using cat model by ^{31}P -topical magnetic resonance (^{31}P -TMR, Oxford Research Systems). The device for the MCA occlusion was implanted by the transorbital approach prior to the start of the experiment. A total of 7 cats were anesthetized by intraperitoneal administration of ketamine, and hypotension was induced by bleeding from the femoral arterial catheter. In group 1 (3 cats), the MCA was occluded for 1 hour, and in group 2 (4 cats), the MCA was occluded for 2 hours. Immediately after the occlusion, phosphocreatine (PCr) decreased and inorganic phosphate (Pi) increased; after 15 minutes ATP decreased and Pi increased markedly. In group 1, PCr and ATP recovered about 4 hours after recirculation of the MCA, but in group 2, there was little recovery of energy metabolism. Group 1 survived more than 12 hours after the occlusion, but the cats in group 2 died within 6 hours after the recirculation. In group 1, there was no infarction at autopsy, but in group 2, severe brain edema and transtentorial herniation was observed. In this experiment, the critical point of duration of the energy reduction for cerebral infarction was considered to be between 1 to 2 hours. When a severe energy reduction continued more than 2 hours, the recirculation was not only ineffective to recovery but also increased the brain edema and led to early death.

In the third experiment, using the 2-hour MCA occlusion model of the rats, cerebral water distribution were studied after recirculation with proton-NMR CT. Immediately after recirculation, slight change in the distribution was observed in some cases. 1 hour after recirculation, the change rapidly increased, and 2-6 hours after recirculation, the water increased much more in the territory of the MCA, but edema was restricted to the cortex. After 24 hours, the water decreased, and at 48 hours, the difference between the right and the left cortex became slight. The peak time of the brain edema after the 2-hour MCA occlusion in the rats was considered to be about 4-6 hours after recirculation.

In the forth experiment, the effects of CoQ_{10} on acute recirculation were studied using monkeys and cats. In 5 monkeys, CoQ_{10} (10mg/kg) was administered intravenously before the MCA occlusion and after recirculation. The duration of the MCA occlusion was 2 hours, as in the first experiment. In these monkeys, there was no severe cerebral infarction, and all of them survived until the time of perfusion fixation. CoQ_{10} was considered effective to the acute recirculation on cerebral ischemia. But the rCBF during the MCA occlusion was 20.1 ± 2.30 ml/100 g min, equivalent to the value of the survived control group of the first experiment. Statistically, CoQ_{10} could not be considered effective. The effects of CoQ_{10} on the brain energy metabolism was studied using 3 cats. CoQ_{10} (25 mg/kg) was administered intravenously before MCA occlusion and after recirculation. The duration of the MCA occlusion was 2 hours. The brain energy metabolism decreased as in the second experiment; after recirculation, the metabolism recovered but the cats died due to the brain edema. It was not sufficient to protect the brain from severe ischemia. From these results, it was considered that CoQ_{10} showed some effects to the acute recirculation on the cerebral ischemia.

緒 言

脳主幹動脈の閉塞による脳梗塞発生を防ぐには、脳組織に不可逆的な損傷を生じる前に血流を再開することがもっとも有効な方法と思われる。しかし、このような急性期に血流再開を行った場合、症例によってはかえって脳浮腫を助長したり、出血性梗塞をきたし症状の悪化をみる危険があることも周知の事実である。Crowell のサルを用いた中大脳動脈一時遮断の実験では、8時間以内に血流再開した場合には脳梗塞を認めなかった例があったが、16時間以上では、全例梗塞に陥ったことを報告している³⁾。上条のネコを用いた中大脳動脈閉塞の実験では、6時間の中大脳動脈遮断で、血流再開後の40%以上の例に出血性梗塞を認めている¹⁸⁾。したがって急性期脳梗塞患者に急性期血行再建術を行う場合は、せいぜい発症後6~8時間以内が限界とされてきた⁴⁰⁾。しかし術前の神経症状や、閉塞部位がほとんど同じで、血行再建術を行うまでの時間も同じであっても、血行再建術により効果が出現する場合と、ほとんど効果を認めず時にはかえって症状の悪化をきたす場合がある⁴¹⁾。このことには、虚血時の脳血流量 (cerebral blood flow, CBF) 虚血時の脳エネルギー代謝の低下の程度、血流再開後における細胞障害や脳浮腫の程度の差などが大きく関与しているものと考えられる。しかし一時的脳虚血時および血流再開後の脳病態生理のダイナミックな変化がどうなるかを体系的に実験検討した報告は少ない^{17,23,24,28,42)}。そこで今回このような実験を行った。

- 1) サル中大脳動脈起始部2時間遮断により脳梗塞に陥る局所脳血流量 (regional cerebral blood flow, rCBF) の決定。
- 2) ネコ中大脳動脈起始部2時間遮断により、³¹P NMR スペクトルを測定し、脳エネルギー代謝の低下の可逆性についての検討。
- 3) ラット中大脳動脈嗅索外縁で2時間遮断における血流再開後の脳組織内水分の変化の proton NMR CT による検討。
- 4) 虚血時に脳保護作用を有する可能性が考えられている CoQ_{10} ^{11,35)} が、前述の病態生理を修飾し、脳梗塞の作成頻度を減少させるかどうかについての検討。

実験 I サルにおける脳梗塞をおこす rCBF の閾値の検討

材料と方法

体重 4.5~8.0 kg の日本ザル10匹を使用し、2時間脳虚血において脳梗塞に陥る rCBF の閾値を求めた。硫酸アトロピン 2 mg とケタミン 10 mg/kg 筋注により麻酔した後、気管切開をした。左前腕にて静脈を確保した後、大腿動脈にカテーテルを挿入し、皮下を通して背部に導き、同カテーテルより動脈血の採取と血圧のモニターをした。少量のケタミンを静脈内投与することにより、麻酔を維持した。無菌操作で、経眼窩的に左中大脳動脈本幹を露出した¹³⁾。ヘパリン 200 単位/kg を静脈内投与後、中大脳動脈起始部をクリップすることにより血流遮断し、2時間後にクリップを除去し血流再開した。クリップ除去後、綿布とアロンアルファにて骨窓を閉じ、デンタルセメントで眼窩内を充たし、少量の抗生物質を塗布し創部を閉じた。覚醒後、モンキーチェアーに坐らせ、麻痺の有無や、下記のパラメーターを観察した。Infrasylvian gyrus の皮質に水素クリアランス用電極を挿入し、顕蓋骨にデンタルセメントとアロンアルファで固定した。水素クリアランス法¹⁰⁾で皮質の rCBF を測定した。また脳波用電極を硬膜外に固定し、スペクトルアナライザーを用いて脳波のパワースペクトルを記録した。rCBF の測定は、虚血前2回、中大脳動脈閉塞中3~5回、血流再開後は、直後、15分後、1時間、2時間、3時間、4時間、12時間、24時間以後7日目まで1日1回行った。生存した例では、7日後に4%グルタルアルデヒドリン酸緩衝液にて灌流固定し屠殺した。2週間以上固定後前額断連続切片を作成し、光学顕微鏡にて梗塞巣の有無を検索した。術後死亡した例では、6時間以内に剖検し、脳をとり出し10%ホルマリン液にて1カ月以上固定し、鏡検した。

結 果

10匹中3匹に血流再開後不全麻痺が続き、6時間、12時間、48時間後にそれぞれ死亡した。皮質の rCBF は、虚血前 $70 \pm 4.79 \text{ ml/100 g min}$ (mean \pm SE) であったが、中大脳動脈クリップにより、 $16.60 \pm 3.37 \text{ ml/100 g min}$ に低下した。このうち死亡したものは $7.5-10.0 \text{ ml/100 g min}$ ($8.61 \pm 0.74 \text{ ml/100 g min}$) であったのに対し、生存したものは $9.9-47.7 \text{ ml/100 g min}$ ($20.2 \pm 4.83 \text{ ml/100 g min}$) であった。血流再開後の rCBF は死亡群では、2例は虚血前に比べ低値であり、また虚血前値以上に回復した1例も3時間後には低下した。生存群では、血流再開後の rCBF は虚血前値に近い例が多く、たとえ低値であっても時間とともに虚血前値に回復した (Fig. 1)。脳波

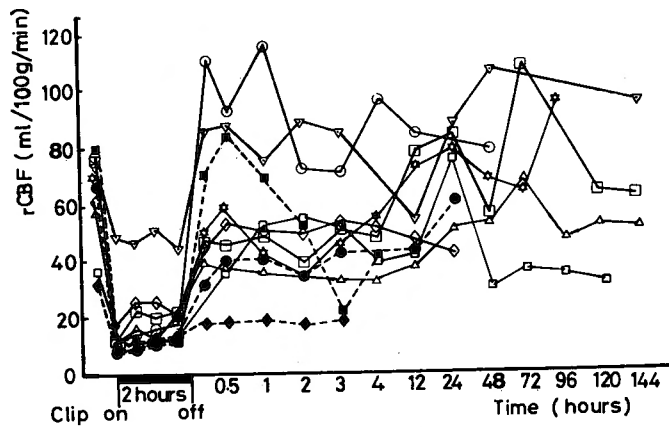


Fig. 1. Serial changes in rCBF measured by the hydrogen clearance method following a 2-hour MCA occlusion in 10 monkeys. An electrode was inserted just below the surface of the infrasyllian gyrus. Open symbols represent surviving monkeys and filled symbols represent monkeys died within 48 hours after MCA recirculation. The mean value of the survived group was 20.2 ± 4.83 ml/100 g min, and in dead group 8.61 ± 0.74 ml/100 g min. The cortical infarction threshold of the cortical rCBF was about 10 ml/100 g min.

は、死亡群では虚血によりほぼ平坦となり、血流再開後もほとんど回復は認められなかった。生存群では、脳波の変化は様々であり、左右差が消失する場合は血流再開後30分～48時間とさまざまであったが、虚血時の血流量と脳波の変化および回復時間との相関は、明らかではなかった。血液ガス分析の結果はいずれも生理的範囲内であった (Table 1)。剖検時、死亡群では患側中大脳動脈領域の著しい腫脹とテントヘルニアの所見を認め、うち1匹では肉眼的に出血性梗塞を基底核に認めた (Fig. 2)。生存群では、1匹にて肉眼で基底核に $5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ の小さな梗塞巣を認めたが、他は肉眼的には特に異常は認めなかった。光学顕微鏡で連続切片を観察し、Crowell らの方法⁷⁾ に準じて、梗塞巣の広がりにより grade 0-3 の4段階に分類した (Table 2)。その結果 grade 0, 1 が各2匹ずつ、grade 2 が3匹 grade 3 が3匹であった (Table 3)。出血を

伴っていたものが grade 2 および 3 に3匹あった。皮質を含む広範囲の脳梗塞となった grade 3 の3匹は全例血流再開後48時間以内に死亡した。

小 括

サルにおける2時間中大脳動脈遮断においては、皮質 rCBF が、 $7.5-9.0$ ml/100 g min に減少した時は、皮質を含む中大脳動脈領域の広範囲な領域で脳梗塞を認めたが、皮質 rCBF が、 11 ml/100 g min 以上では梗塞巣に皮質は含まれなかった。 $9.9-10$ ml/100 g min では、1匹が皮質を含む広範な梗塞となり、1匹は梗塞巣は基底核に局限しており、皮質は含まれなかった。このことから、2時間の中大脳動脈遮断により脳梗塞に陥る皮質の rCBF の閾値は、約 10 ml/100 g min と考えられた。また梗塞に陥る場合は、rCBF は、血流再開後たとえ回復しても、3時間後には 40 ml/100 g min 以下に減少した。梗塞にならなかった

Table 1. Systemic factors in 10 monkeys before, during, and after MCA occlusion

	Before Occlusion	During Occlusion	After Recirculation
pO ₂ (mmHg)	110.3 ± 11.2	112.5 ± 10.3	105.6 ± 16.3
pCO ₂ (mmHg)	34.4 ± 4.1	33.7 ± 3.20	35.5 ± 5.54
pH	7.40 ± 0.032	7.39 ± 0.045	7.35 ± 0.060

Numbers are mean values with standard deviations.

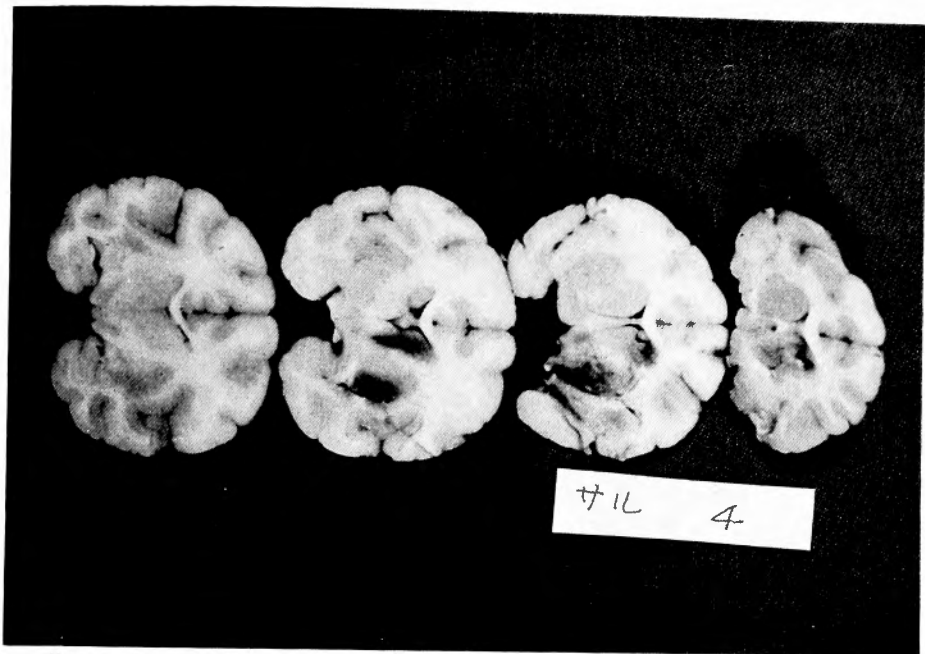


Fig. 2. Cerebral infarction of the monkey following a 2-hour MCA occlusion. The infarction occupied the basal ganglia and extended to the cerebral cortex, and hemorrhagic infarction occurred in basal ganglia.

ものは、たとえ血流再開後の rCBF が虚血前に比して低値であっても、時間とともに増加し、虚血前値に近づいていった。このことは、血流再開後におきる脳浮腫の程度の差に起因するものと推測された。

実験II 脳虚血時のエネルギー代謝に関する研究—特に *in vivo* での PCr, ATP の消長

材料と方法

Table 2. Pathological evaluation

Grade	Findngs
0	No changes typical of infarction.
1	A few microscopical foci of necrosis not exceeding 3 mm in diameter.
2	Medium-sized infarct usually confined to the basal ganglia and internal capsule. Exceptionally infarction extends to a small area of the brain surface.
3	Large infarct in the central territory of the MCA. Occupies basal ganglia, internal and external capsules, claustrum, insula and extends broadly to the surface of the brain.

2.5~3.7 kg の成猫 7 匹を使用した。脳代謝の測定に先だち、5~7 日前にペントバルビタール麻酔下にて、経眼窩的に左中大脳動脈起始部にポリエチレンチューブと 6-0 monofilament ナイロン糸で作成した血流遮断装置を埋め込んだ^{13,30)}。Gelfoam とアロンアルファにて骨窓を閉じ、デンタルセメントで眼窩内を充たし、少量のセファロスポリン系抗生物質を塗布し、創部に血流遮断装置を縫い込み閉じた。その後 3 日間抗生物質を筋肉内または腹腔内に投与し、感染の予防を行った。

脳エネルギー代謝測定に当たり、硫酸アトロピン 0.2 mg とケタミン 30 mg/kg の腹腔内投与により麻酔し、気管切開後、左大腿動脈および静脈にカテーテルを挿入した。麻酔の維持は、最少量のケタミンの静脈内投与により行った。頭皮および側頭筋を除去後、頭蓋骨に直径 5 mm の小孔をあけ、患側大脳半球の

Table 3. Size of infarction in two-hour MCA occlusion

Size of infarction (Grade)	0	1	2	3
Number of cases	2	2	3	3

ectosylvian gyrus に2ヶ所, 対側大脳半球で1カ所, 水素クリアランス法による rCBF 測定用もしくは, 脳波測定用のプラチナ電極を皮質内または脳表に挿入し, デンタルセメントとアロンアルファで固定した. 大腿動脈より 50~100 ml 脱血し低血圧 (平均血圧約 70~90 mmHg) とした後, ヘパリン 300単位/kg を静脈内投与し, 脳血流遮断装置により, 左中大脳動脈起始部を遮断した. 7匹のネコを2群に分け, I群 (3匹) は1時間後に血流再開し, II群 (4匹) は2時間後に血流再開した. II群においては, 虚血前, 虚血中, 血流再開後に各々水素クリアランス法により, 脳エネルギー代謝測定範囲内の皮質 rCBF および脳波を測定した. I群については, 脳波の測定のみを行

った. 脳エネルギー代謝の測定は, 低血圧前, 低血圧後虚血前, 中大脳動脈遮断後および血流再開後に経時的に行った. II群では, 対側半球の脳エネルギー代謝も測定した. 3匹にて血液ガス分析を行った.

I群は, 屠殺2~3時間前に 2.5% Evans blue (1 ml/kg) を投与し, 脳虚血後12~24時間で, 10%ホルマリン液にて灌流固定し屠殺した. II群は, 血流再開後1~3時間で Evans blue を静脈内に投与し, 死亡直後, ホルマリン液にて灌流固定した.

脳エネルギー代謝は, 国立岡崎共同研究機構生理学研究所 (亘 弘教授) の TMR 32/200 スペクトロメーター (磁場強度1.8テスラ, ^{31}P の共鳴周波数 32.5 MHz, Oxford Research Systems 社製¹⁵⁾) を用いて,

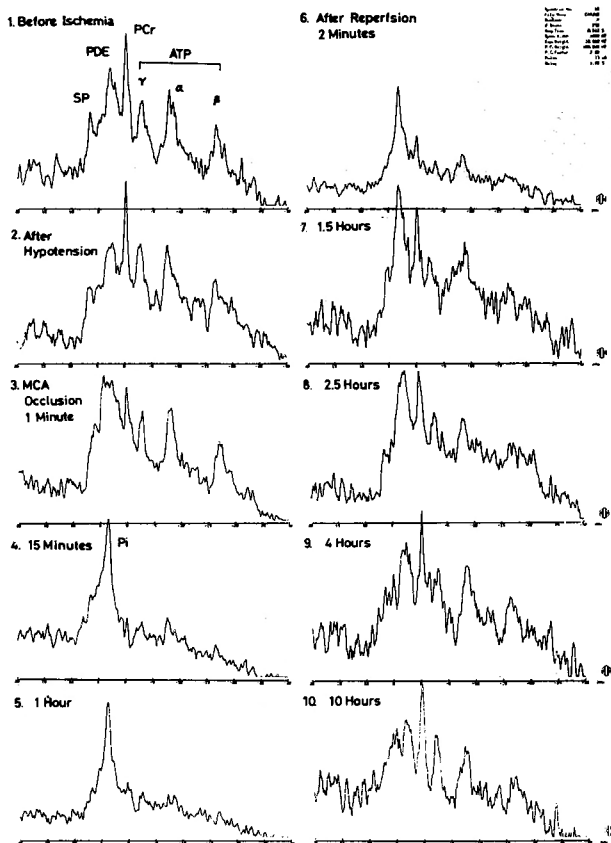


Fig. 3. Serial changes in ^{31}P -NMR spectra of the cat brain in the left MCA territory following a 1-hour MCA occlusion. The assignments of the resonance peaks represent sugar phosphate (SP), inorganic phosphate (Pi), phosphodiester (PDE), phosphocreatine (PCr), γ -, α -, β -phosphate of ATP from the lower magnetic field. Hypotension showed no effect on the spectra. Immediately after the MCA occlusion, PCr decreased and Pi increased, but ATP remained almost at pre-ischemic level. After 15 minutes, ATP also decreased, and Pi increased markedly. Four hours after recirculation of the MCA, PCr, and ATP recovered.

リン核磁気共鳴法により測定した。測定領域は球状であり、磁場成形コイルに流す電流を調節することにより、検出容積の直径を変えることができるが、位置は固定させている。今回の実験では、検出容積の直径を1.6~2.0 cmとした。ラジオ波の送受診には、直径3.0 cmの表面コイルを使用した。パルス巾は、13 μ sec、パルス繰り返し時間は1秒であり、観測周波数帯域は4000 Hz、データポイントは4096で集積時間は、0.512 msecであった。磁場の均一度に応じて250~1000回の加算を行い、信号/雑音比(S/N比)を改善し、得られた信号をフーリエ変換してスペクトルを得た。1回の測定時間は約4~18分であった。

ネコを黄銅およびアクリル樹脂で作製した固定台に、側臥位で固定し、前頭側頭部の頭蓋骨が、表面コイルに接するように設置し、頭蓋骨上より中大脳動脈領域の ^{31}P NMRスペクトルを得た。血流遮断装置の操作は、TMR内にネコを固定したままで行った。rCBFの測定はTMR内より出し、別室で行った。脳波の測定もTMR内より出して行った。

結 果

いずれの群においても、脱血により低血圧としても、脳エネルギー代謝上の変化は認めなかった。中大脳脈の遮断後、0~5分でクレアチンリン酸(PCr)が低下し、無機リン(Pi)が増加した。次いでATPの γ 、 α 、 β 位の ^{31}P の信号の低下が認められPiが著しく

増加した(Fig. 3)。Piのchemical shift値は、高磁場側に変化し、脳組織のpHが酸性に傾いていることを示した。1時間後に血流再開したI群は、全例血流再開後直ちに無機リンが低下し始め、PCr、ATPの回復を認め、4~6時間後には、ほぼ虚血前のパターンに回復した。脳組織のacidosisも血流再開後2時間以内に改善した(Fig. 3)。Pi、PCr、ATPの β 位のpeakの面積の総和を100%として各々の比率を図示したものがFig. 4である。血流再開後、4時間で回復し、その後は多少の変動を認めた。II群では、血流再開後、Piが高値で続くものが多くPCr、ATPもほとんど回復しなかった(Fig. 5)。また多少回復の傾向を認めた場合にも早期に再度低下し、Piが高値となった。また組織のacidosisも続いた。虚血前、中大脳動脈遮断後、血流再開後に対側大脳半球で測定した ^{31}P NMRスペクトルは、変化を認めなかった(Fig. 6)。rCBFは、中大脳動脈の遮断により、虚血前の20%(12 ml/100 g min)以下に低下したが、血流再開後回復していた。脳波は、低血圧操作ではほとんど変化を認めなかったが、中大脳動脈遮断後、患側では平坦となった。1時間後に血流再開を行っても、ほとんど変化はなかったが、脳代謝が回復した4時間前後で患側に脳波の出現を認め左右差が消失するのには、血流再開後8~10時間を要した(Fig. 7)。血液ガス分析値は生理的範囲内であった。I群は、血流再開後全例12

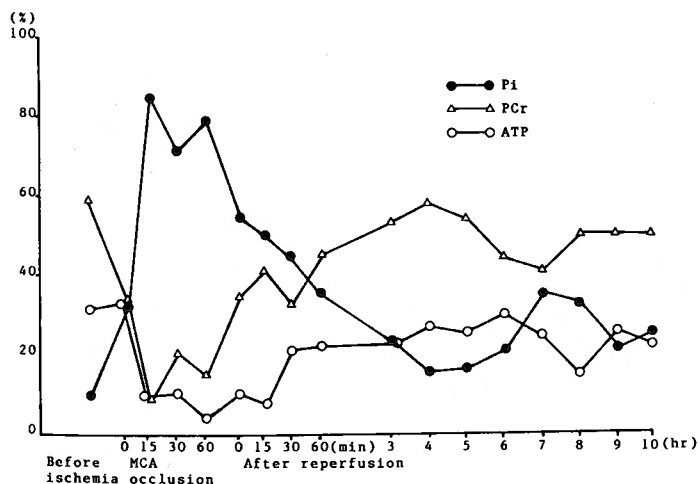


Fig. 4. Serial changes in the content of phosphorous compounds from the pre-ischemic period to 10 hours after recirculation. The sum total of Pi, PCr, and β -phosphate of ATP is 100%. In the ischemic period, PCr and ATP decreased and Pi increased markedly. After recirculation, PCr and ATP began to be restored and recovered to the pre-ischemic level after 4 hours.

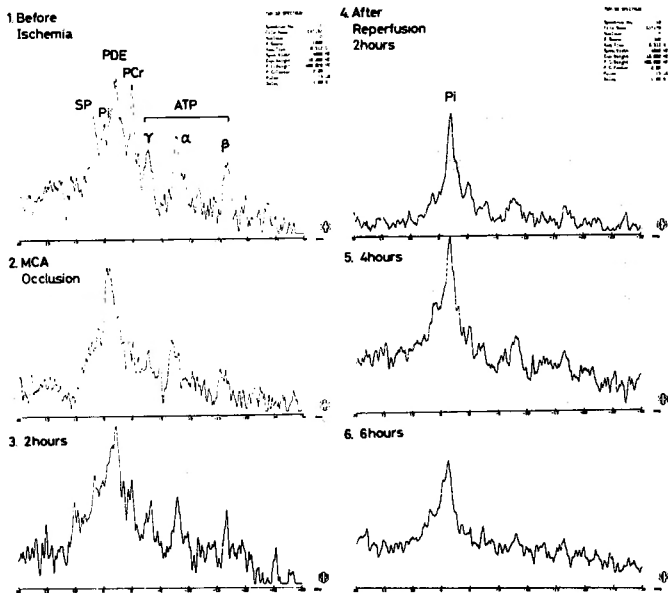


Fig. 5. Serial changes of ^{31}P -NMR spectra following a 2-hour MCA occlusion in the cat. After recirculation of the MCA, PCr and ATP did not recover, and Pi remained at a high level.

時間以上生存したが、Ⅱ群は6時間以内に全例死亡した。剖検時、Ⅰ群では、基底核領域にわずかに腫脹を認めたものがあったが、Evans Blue の漏出は、ほと

んど認めなかった。Ⅱ群では、いずれも患側中大脳動脈領域の腫脹を認めるとともに、テントヘルニアを認め (Fig. 8)、これが直接の死亡原因と考えられた。

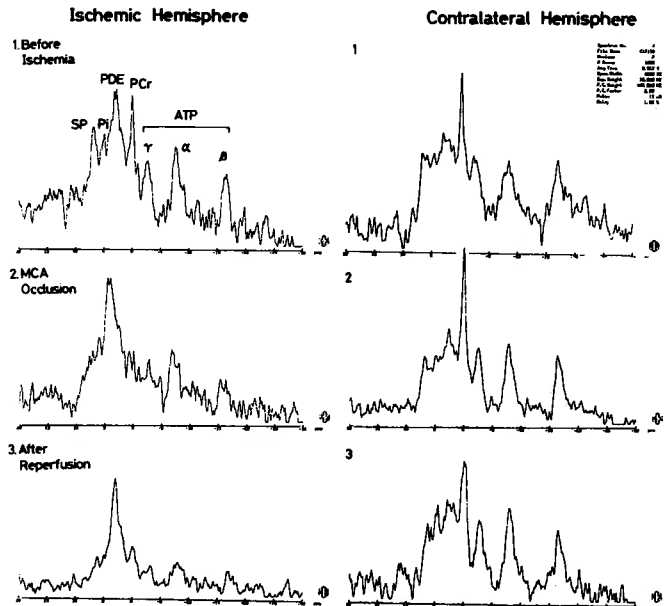


Fig. 6. ^{31}P -NMR spectra of ischemic and contralateral hemispheres. No changes in the spectra were seen in the contralateral hemisphere from the pre-ischemic period to recirculation.

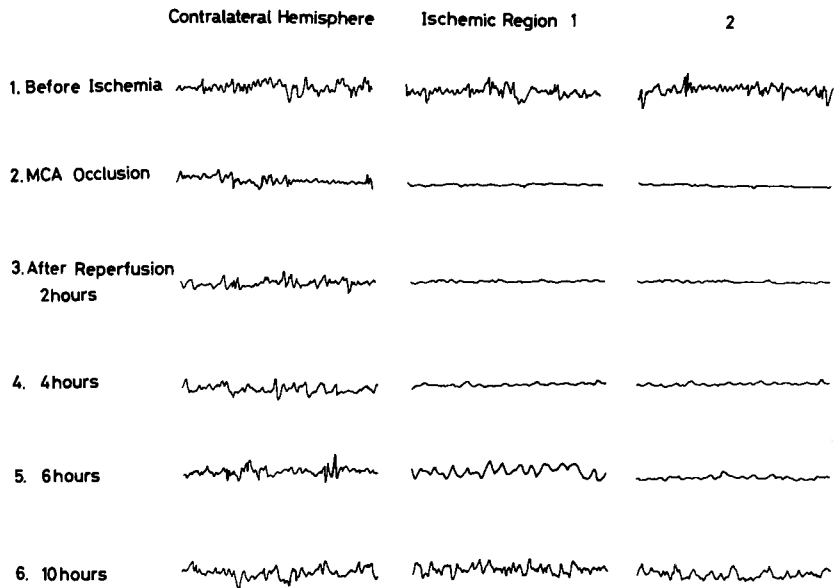


Fig. 7. Serial changes in EEG with a 1-hour MCA occlusion in the cat. EEG became almost flat after the MCA occlusion. EEG began to recover at 4 hours after recirculation, at that time high-energy phosphate levels increased to almost pre-ischemic levels as in Fig. 4. The difference in EEG between the right and the left hemisphere disappeared at 10 hours after recirculation.

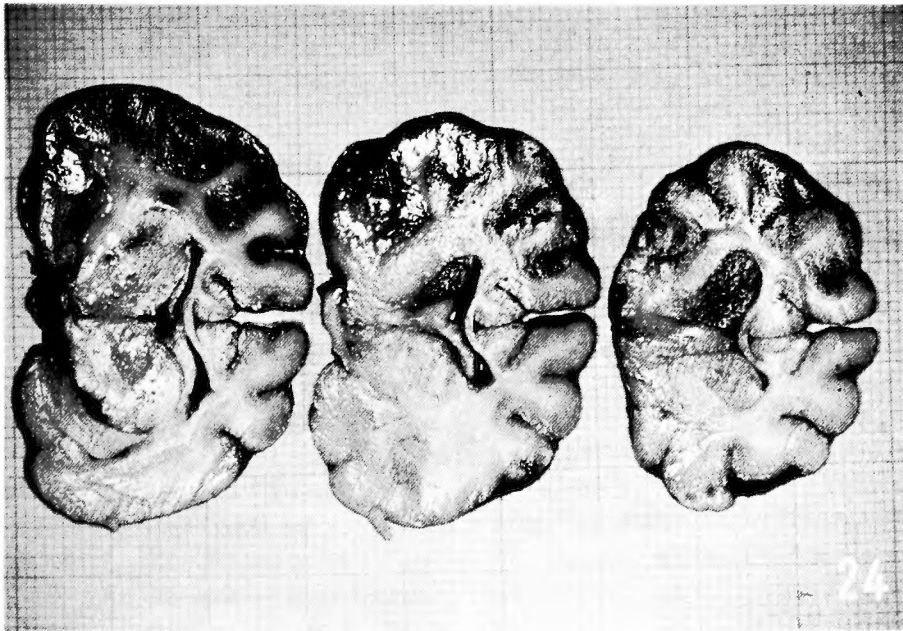


Fig. 8. Cerebral swelling and exudation of Evans blue in the left MCA territory of the cat brain following a 2-hour MCA occlusion, were observed in the basal ganglia and extended broadly to the surface of the brain.

小 括

今回の結果から、ネコにおいては、中大脳動脈遮断により脳エネルギー代謝が低下した時、1時間以内に血流再開を行えば、脳エネルギー代謝は回復し得ることが判明した。しかし、脳エネルギー代謝の低下が2時間続くと、血流再開を行っても脳エネルギー代謝の回復はほとんど認められなかった。このことより脳エネルギー代謝の低下が生じた場合、不可逆的な変化の生じる Time limit は1時間と2時間の間にあるものと考えられた。そして time limit を超えた後に血流再開を行った場合、脳浮腫を増強し、かえって脳梗塞の病態の悪化をきたした可能性が考えられた。

中大脳動脈1時間遮断群における脳波と脳エネルギー代謝の回復の相関については、脳波の回復と脳エネルギー代謝回復は同時に進行するのではなく、脳エネルギー代謝がほとんど回復した後はじめて脳波の回復が始まることがわかった。そして脳波上健側との差がなくなるのには、血流再開後10時間を要したことから、脳波の回復は、脳エネルギー代謝の回復よりもはるかに遅いことがわかった。

実験 III 脳虚血および血流再開に起因する脳浮腫の研究

材料と方法

体重 400~500 g 雄ウィスター系ラット14匹を使用した。硫酸アトロピン 0.05 mg とペントバルビタール 50 mg/kg を腹腔内に投与し、麻酔した後、ラットを自由な角度に頭部が固定できる手術台に固定し気管内挿管した。側臥位にて、田村らの方法³⁷⁾に準じて皮膚切開後頰骨弓を切除し、側頭筋を牽引して頭蓋底に達し、直径約 3 mm の小孔を側頭下にあげ、硬膜およびクモ膜を 27 G の注射針にて切開し、左中大脳動脈本幹を露出した。ヘパリン 400単位/kg を静脈内投与し、嗅索の外縁にて、微小クリップ*にて、中大脳動脈本幹を遮断した。その後、直ちに少量の Evans blue を静脈内投与し、中大脳動脈本幹の血流がクリップにより完全に遮断されていることを確認した。2時間後にクリップを除去し、中大脳動脈本幹の血流を再開した。中大脳動脈遮断2時間後、血流再開1時間後、2時間後、6時間後、24時間後、48時間後、1週間後に各々ラットを脱血により屠殺し、直ちに湿度を95%に高めた密封操作箱内で、ラットの脳を取り出し、厚さ約 2.0 mm の冠状断切片を作製し、深さ 4

mm 内径 17 mm のアクリル容器に密封し、切片採取後30~60分で proton NMR CT 装置にて撮像した。同装置は、京都大学理学部端研究室と三洋電機株式会社研究所が共同開発したものである²⁾。画像は、16色調のカラーで表示され、白がもっとも信号強度が強いことを示している。画像は85×85のマトリックスを170×170に補間して構成され、pixel の大きさは、0.2 mm²である。Proton NMR CT にて脳内水分測定後、信号強度の強い部分の皮質と、対側の皮質を切除し、乾燥重量法にて水分量を測定した。

結 果

中大脳動脈遮断後2時間では、全く変化を認めないものと、患側皮質の信号強度増加を認めるものとがあった。血流再開後1時間では、患側中大脳動脈領域の広い範囲の皮質において、明らかに信号強度の増加を認め、2時間、6時間後にはさらに増加した。しかし24時間後には減少し、48時間後には、わずかに左右差を認めるのみであった (Fig. 9)。7日後には全く左右差を認めなかった。いずれも水分の変化は、皮質に限られており、基底核には、変化はほとんど認められなかった。乾燥重量法による水分は、正常皮質は、平均78.9%であったが、血流再開2時間および6時間後の標本では、いずれも3.7%の左右差があり、患側にて増加していた。24時間後では、患側の増加は、1.7%に減少していた。

小 括

Proton NMR CT で、ラットの脳皮質の脳浮腫をとらえた。虚血時には、ごく軽度であった脳浮腫が血流再開後急速に増加した。脳浮腫は、血流再開後4~6時間でもっとも強くなるように思われた。

実験 IV CoQ₁₀ の脳虚血に対する効果

A) サルによる実験

材料と方法

実験 I と同様に、サル5匹を用いて、rCBF、脳梗塞の作成頻度を調べた。

中大脳動脈遮断1時間前に CoQ₁₀ 10 mg/kg を静脈内投与し、血流再開後3時間、以後1日1回 10 mg/kg の CoQ₁₀ を静脈内投与した。7日後に灌流固定し、固定後連続切片を作成し、鏡検した。

結 果

CoQ₁₀ 投与群は、1匹にて中大脳動脈一時遮断後、麻痺が続いたが、途中死亡したものはなかった。虚血前の皮質の rCBF は、 67.8 ± 3.10 ml/100 g min (mean

* 河野製作所製

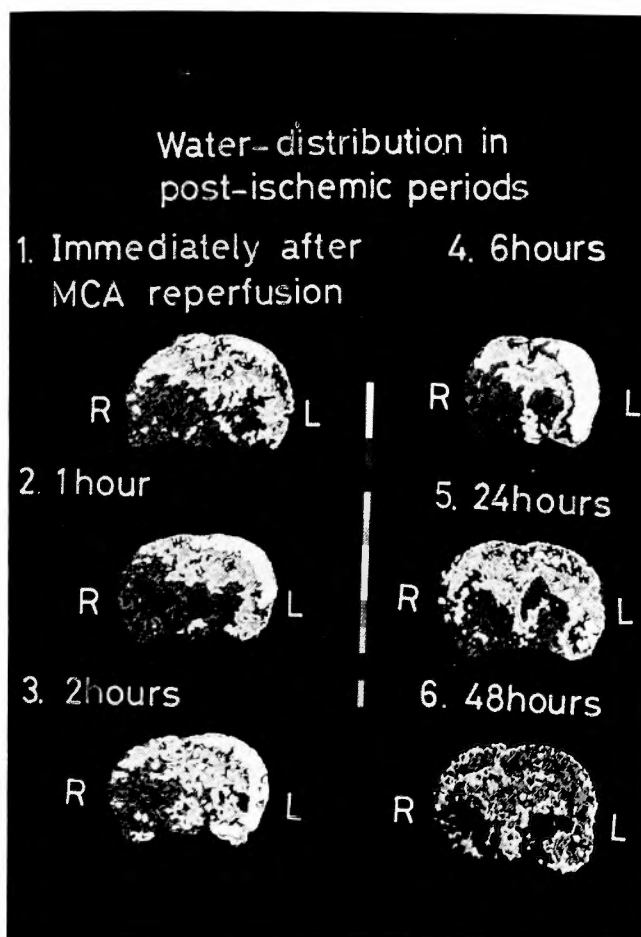


Fig. 9. The changes in water distribution after recirculation of the left MCA in rat model. Immediately after the recirculation, slight changes in the distribution were seen in some cases. One hour after the recirculation, the changes became pronounced, and 2-6 hours after the recirculation, the water content increased markedly in the cortex of the MCA territory, but edema was restricted in the cortex. After 24 hours, the water content decreased, and after 48 hours, the difference in the signal between the right and the left cortices became only slight.

±SE) で、中大脳動脈一時遮断により 20.1 ± 2.30 ml/100 g min に低下した。血流再開3時間後に虚血前値より低かったものも、12時間後には全てほぼ正常

Table 4. Size of infarction in two-hour MCA occlusion

Size of infarction (Grade)	0	1	2	3
Number of cases (Control)	2	2	3	3
(CoQ ₁₀)	3	1	1	0

値に回復した (Fig. 10)。麻痺が続いた1匹にて剖検時に肉眼的に基底核に限局性の梗塞巣を認めた。連続切片の観察では、grade 0 が3匹、grade 1, 2 が各々1匹で grade 3 は認めなかった (Table 4)。

B) ネコ脳エネルギー代謝におよぼす CoQ₁₀ の影響 材料と方法

実験Ⅱと同様にして、成猫3匹を使用した。虚血前30分に CoQ₁₀ 25 mg/kg を静脈内投与し、さらに脱血により低血圧とした後、ヘパリン 300単位/kg を静脈内投与し、血流遮断装置により、2時間中大脳動脈

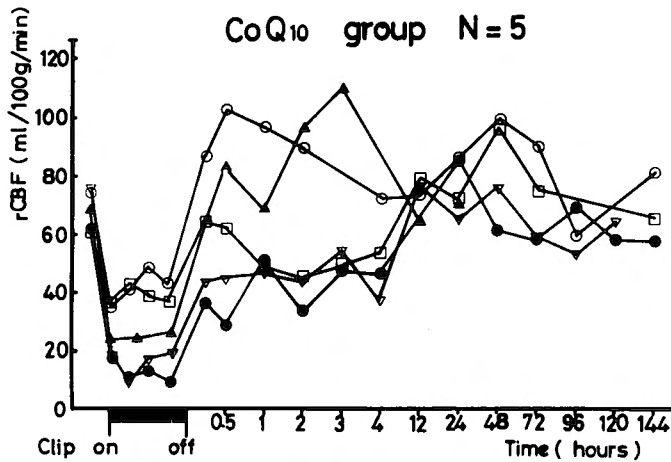


Fig. 10. Serial changes in rCBF in the infrasyllian gyrus of the monkey of CoQ₁₀ (10mg/kg) administered group. The mean value was 20.2±4.83 ml/100 g min.

本幹を遮断した。脳波のモニターと、TMR 32/200 により脳代謝の測定を行った。血流再開後2時間で、CoQ₁₀ を再度静脈内投与した。死亡前に Evans blue

を静脈内投与し、死亡直後に10%ホルマリン液にて灌流固定を行った。

結 果

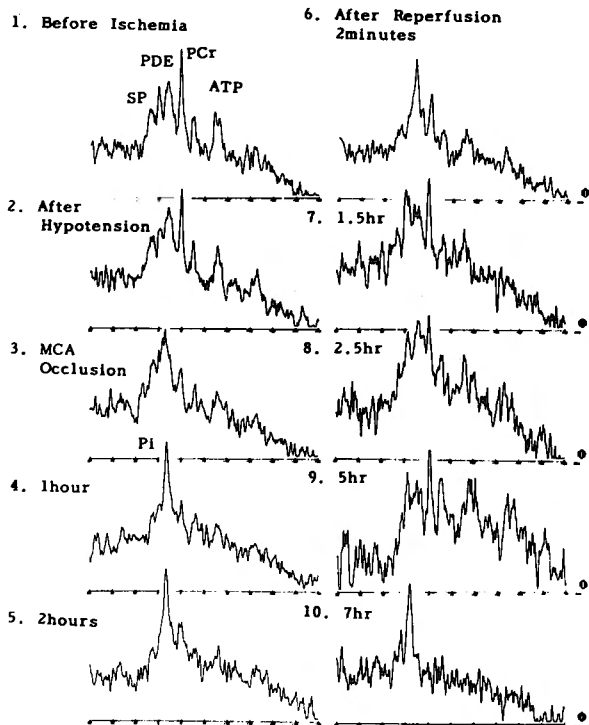


Fig. 11. Serial changes in ³¹P-NMR spectra in the left hemisphere of the MCA territory of the cat brain that was administered CoQ₁₀ (25 mg/kg) intravenously. The brain energy metabolism recovered 5 hours after recirculation, but at 7 hours after reperfusion, it decreased again, and then the cat died.

中大脳動脈の閉塞により3匹とも、PCr, ATP が低下し、Pi が高値となった。Pi の chemical shift 値は、脳組織の pH が酸性に傾いていることを示した。血流再開後は、Pi が低下し PCr, ATP が増加したが3～7時間後に再度 Pi が高値となり、PCr, ATP が低下した (Fig. 11)。血流再開後3.5～7時間で全て死亡した。脳波は、ほとんど平坦となり、血流再開後も回復は認めなかった。剖検時、中大脳動脈領域の著しい腫脹と、同部に明らかな Evans blue の漏出を認め、テントヘルニアを認めた。

小 括

A) CoQ₁₀ の脳梗塞におよぼす影響

虚血前後に CoQ₁₀ を投与したサルでは、実験Ⅰの control 群に比べ、脳梗塞の範囲が小さく、死亡したものがなかったことより、CoQ₁₀ は、脳虚血時に脳保護作用があるように思えた。

B) 脳エネルギー代謝におよぼす影響

脳エネルギー代謝を測定したネコでは、2時間虚血にもかかわらず、脳エネルギー代謝の回復の傾向を認め効果があった。テントヘルニアで死亡したことから脳浮腫に対しては、十分な効果は認められなかった。

考 察

1. 脳梗塞実験モデルの選定に関して

今回の実験では、測定器械による種々の制約があり、それぞれもっとも適していると思われるモデルを用いた。

一般に脳梗塞モデルは、梗塞巣の広がりより大別すると、global, hemispheric, multifocal, focal の4つがあり²⁷⁾、梗塞巣の広がりが大きくなると死亡率が増加し、長時間の経過観察が困難となる。主な脳血流一時遮断モデルを Table 5 に示した。各々長所短所があるが、今回は実際に人間でおこる頻度が高く、さらに外科的加療の可能性があるのではないかと考えられる中大脳動脈遮断モデルを用いた。脳梗塞モデルでは、①直接手術操作で脳組織を損傷しないこと、②同一部位に安定した梗塞巣を作成することが可能なこと、③全身状態に影響をおよぼさないことがもっとも望ましく⁹⁾、さらに人間の脳梗塞の型に近いことも望まれる。そのため今回は、経眼窩的に、または頭蓋外から側頭骨下より中大脳動脈本幹を選択的に遮断する方法を用いた。しかしこの方法には、血管壁に沿って走行する autonomic nerve を損傷し、脳血流量の autoregulation の神経因子に障害を与え、血管の denervation

hypersensitivity を引きおこし、脳虚血病巣に何らかの影響を与えている可能性があり⁹⁾、この点は今後さらに検討を要するものと考えられた。

脳虚血時間は、超急性期血行再建術を考慮して、rCBF の低下により局所脳梗塞が発症する最小時間である2時間^{7,17)}と定めた。

実験Ⅰでサルを使用した理由は、中型動物でもっとも高頻度に比較的安定した梗塞巣を作成することが可能であり、しかも霊長類として人間の脳循環動態に近いと考えられ、臨床的に中大脳動脈閉塞再開による血流パターンの変化、脳波の変化、神経学的所見の消長が、もっとも明確に把握することが可能なためである。

実験Ⅱでネコを使用したのは、脳代謝測定の TMR 32/200 の磁場コイルの内径が20 cm という制約があり、さらに日本ザルのような頭の大きな動物を使用した場合、磁場を均一に保つことが困難となるためである。ネコの場合、中大脳動脈の穿通枝が分枝した遠位側で遮断すれば、低血圧を導入しなくとも比較的高頻度に梗塞巣を作成することが可能である³⁸⁾。しかし TMR 32/200 の信号測定範囲(検出容積)の直径は、1.5 cm 以下に絞ることは不可能であり、正常脳組織を検出容積内に含まねためには、これより大きな脳虚血病巣を作成することが必要であった。そのために脱血により低血圧とした後、中大脳動脈を起始部で遮断する方法を用いた。これにより直径2.0 cm 以上の範囲で Evans blue の漏出が認められ、Ratchenson らが示したネコ中大脳動脈閉塞モデルの case 5³³⁾ のような広範囲に energy failure が生じたものと考えられた。低血圧操作のみでは、³¹P NMR スペクトルの変化は認めず、脳エネルギー代謝に直接的な影響はなかった。

実験Ⅲに使用した実験用の proton NMR CT では測定可能な標本の大きさが2.0 cm 以下であり、これより大きな標本は測定できなかった。脳の大きさが2.0 cm 以下という条件をみたく小動物としては、mongolian gerbil, マウス, ラットがある。これまでは小動物を用いる脳虚血血流再開実験には、主として mongolian gerbil の頸動脈遮断モデル^{20,21)}、ラットを用いて4本の頭蓋外主幹動脈の遮断モデル³²⁾、頭蓋内圧をあげ還流圧を低下させる compression モデル^{24,34)}などが使用されてきた (Table 5)。Mongolian gerbil はラットに比べ大脳が小さく、さらに梗塞に陥った時、全身痙攣を誘発しやすく²²⁾、長時間の経過観察が困難であり proton NMR CT による脳内水分の経時的な観察には不利である。ラットモデルは、いず

Table 5. Temporary cerebral ischemic models

Animal	Etiology of ischemia	Distribution of ischemia	Advantage	Disadvantage
Monogolian gerbil	Carotid a. clipping	Global and Hemispherical	High percentage of infarction, and no surgical manipulation of the brain	Convulsion and early death
Rat	4-vessel clipping	Global	As above	As above
	Compression	Global	High percentage	Brain damage and different from infarction in human
	Carotid a. clipping + hypotension	Global	High percentage and no surgical manipulation of the brain	Systemic acidosis and electrolytes shift
	MCA clipping	Focal	High percentage and minimum surgical manipulation of the brain	Need of skillfulness
Cat	Brachiocephalic a. clipping	Global	High percentage and no surgical manipulation of the brain	Early death Severe systemic acidosis and electrolytes shift
	Compression	Global	Same as rat case	Same as rat case
	Carotid a. clipping + hypotension	Global	Same as rat case	Same as rat case
	MCA clipping	Focal	Same as rat case	Unstablensness of the infarction
Dog	Cerebral aa. multi-clipping	Hemispherical and focal	High percentage	Large surgical manipulation of the brain
	MCA clipping	Focal	Minimum surgical manipulation of the brain	Low percentage of infarction
Monkey	MCA clipping	Focal	Same as rat case	Same as rat case
Baboon	MCA clipping	Focal	Same as rat case	Same as rat case

れも局所脳虚血モデルではなく広範囲に梗塞巣が出現し、血流再開後早期に死亡することが多く、長期間の観察には不向きである。そこで今回新たに proton NMR CT 用として、田村らのラットモデル³⁷⁾を発展させ微小クリップによるラット中大脳動脈一時遮断モデルを作成した。一般に小動物を用いて脳血流一時的遮断により、安定した局所脳虚血病巣を作成することは困難であるとされてきたが、今回のラットモデルは、rCBF の低下が一定して中大脳動脈領域の皮質に生じ²⁶⁾、血流再開後も安定して同皮質での水分含有量の変化を認めた。このモデルは、脳エネルギー代謝や脳内水分の変化を長期的に観察するのに適していると思われる。

2. 脳梗塞に陥る局所脳血流量の閾値

サルを用いた実験 I では、皮質 rCBF が、約 10 ml/100 g min 以下に低下した時、皮質を含む広範囲

の脳梗塞に陥った。つまり 2 時間脳血流遮断により皮質を含む広範囲の梗塞に陥る皮質 rCBF の閾値は、約 10 ml/100 g min であった。このことは、Jones TH らが報告しているサルの実験による 2~3 時間の中大脳動脈閉塞による rCBF の閾値が 10-12 ml/100 g min¹⁷⁾ という事実とよく一致する。また、Branston NM らは、ヒヒを用いた実験で rCBF が 10 ml/100 g min になると energy failure が生じ、細胞膜の Na-K ion pump failure をきたすことを報告している⁵⁾。今回我々が実験で使用したネコは虚血時の皮質 rCBF が 12 ml/100 g min 以下であり、2 時間後に血流再開した結果著しい脳浮腫をきたしたが、この値は、田村らのネコ中大脳動脈 2 時間遮断による梗塞に陥る rCBF の閾値 (12-15 ml/100 g min) の報告³⁸⁾に近い値であった。このことより、2 時間虚血では、梗塞に陥る rCBF の閾値と、Na-K ion pump failure

の生じる rCBF の閾値は、一致すると考えられた。

3. 脳虚血および血流再開による脳エネルギー代謝および脳波の変化

脳虚血のエネルギー代謝は、種々のモデルを用いて検討されてきた。しかし同一個体で虚血前から血流再開後にかけて脳エネルギー代謝の変化を連続して観察することは、NADH の fluorescence の変化を観察する^{12,16)}以外は、ほとんど不可能であった。そのため虚血後血流再開によるエネルギー代謝の改善と、脳波などの脳機能の回復との関係を解明することは、非常に困難であった。³¹P NMR は、この欠点を克服し、in vivo にてエネルギー代謝を経時的に測定することにより、脳波などの脳機能との関係を解明することが可能となった。³¹P NMR 装置を用いた脳エネルギー代謝の研究としては、ネコの全脳虚血モデル⁶⁾と、Pulsinelli-Brierley のラットモデルを用いた全脳虚血²⁹⁾、mongolian gerbil を用いた半球虚血³⁹⁾の研究論文が発表されている。今回我々は、ネコ中大脳動脈本幹を遮断することにより、より人間の脳虚血に近い局所脳虚血について実験を行った。この方法による報告は、いまだされていないようである。中大脳動脈遮断直後には、PCr が低下し、Pi は上昇したが、ATP はまだ保たれていた。これは、Astrup らの言う electrical failure を生じる rCBF の閾値 15-18 ml/100 g min^{4,14,36)}と、Energy failure を生じ膜の ion pump failure が生じる rCBF の閾値 10 ml/100 g min⁵⁾の間にある“ischemic penumbra”³⁾の時期の脳エネルギー代謝の状態と同様であると考えられた。中大脳動脈遮断15分後には、ATP も低下し、energy failure の状態となった。しかし、1時間以内に血流を再開すると脳エネルギー代謝は回復した事実から、energy failure の持続時間が、血流再開の効果を決定する重要な因子となるものと考えられた。

小暮らは、脳虚血時における病態生理生化学を4期に分類している (Table 6)³⁹⁾。今回我々が示したネコ中大脳動脈遮断モデルでは、1時間虚血では、第2期第2相以前の状態で血流再開がなされたものと考えられた。2時間虚血では、すでに第2期第3相以上に進んでおり、血流再開はかえって脳浮腫を助長する結果となり、また free radical による細胞障害の可能性も考えられ、テントヘルニアに陥り、早期に死亡したものと考えられた。今回の実験には含まれていないが、中大脳動脈遮断により、脳波はほとんど平坦となったが、

Table 6. 虚血内病態生理生化学 (Intraischemic events)

第1期: Stage of acidosis
第2期: Stage of energy crisis
第1相: 原形質内 NAD ⁺ の欠乏
第2相: Hydrogen transport shuttle の解離
第3相: Mitochondria の電子伝達系の損傷
第3期: Stage of disintegration
第4期: Stage of autolysis

エネルギー代謝が比較的保たれているいわゆる“ischemic penumbra”の状態が2時間続き、脱血を追加して energy failure に陥って後50分後に血流再開した場合にも、脳エネルギー代謝の回復は認められた。このことは、“ischemic penumbra”から energy failure に陥った場合でも、超早期に血流再開すれば、free radical による細胞障害も少なく、効果が期待できることを示している。

脳波と脳エネルギー代謝の回復の関係に関しては、1時間虚血において、充分に脳エネルギー代謝が回復した後、はじめて脳波の回復傾向が出現し、さらに脳波上左右差が消失するのには、脳エネルギー代謝の回復後数時間を要することが判明した。この事実より急性期脳虚血患者において、人為的高血圧により直後から脳波の回復が認められる場合は、脳エネルギー代謝が、比較的良く保たれているものと推論でき、このような場合には、急性期血行再建術の可能性があるものと考えられる。

局所脳虚血においては、虚血巣とはなれた部位（たとえば反対側大脳半球や後頭蓋窩など）の血流量も低下するいわゆる“diaschisis”という現象が生じることが知られている²⁵⁾。脳エネルギー代謝の面から今回検討したが、ネコの実験では“diaschisis”については解明するに至らなかった。この原因としては次のように推論される。1つには、TMR 32/200 の検出容積内に“diaschisis”のおきている部位を含んでいなかった可能性、次にエネルギー代謝の測定が、中大脳動脈遮断中および血流再開後それぞれ1回ずつであったため、“diaschisis”のおきている時期に測定しなかった可能性、3番目には ATP の低下をきたすような強い“diaschisis”のおこらなかった可能性の3つが考えられた。

4. 脳内水分の変化

Proton NMR CT では、中大脳動脈遮断2時間ですでに信号強度が強くなっているものが認められた。

O'Brien らは、ネコ中大脳動脈の経眼窩的結紮モデルにては、4時間後にはじめて水分の増加を認めたことを報告している³¹⁾。Proton NMR CTの使用で非常に早期から脳内水分の変化を観察することが可能になるものと思われる。また虚血時の血流量の差により、2時間中大脳動脈遮断直後で脳内水分の変化を認めたものと、そうでなかったものに分かれあ可能性が考えられた。血流再開後の水分増加は直後よりはじまり、4～6時間で最大に達するものと考えられた。この時間は、実験Ⅱの2時間虚血のネコが脳浮腫により死亡した時期と一致した。このことは、生体にて断層画像が撮影できる proton NMR CT にてさらに検討する予定である。

5. CoQ₁₀ の血流再開におよぼす影響

サルを用いた実験では、CoQ₁₀ 投与群の方が、梗塞のできる比率が低く、また死亡するものがなかったことより、急性期脳虚血に効果のある可能性が考えられた。しかし、虚血時の血流量が 12-30 ml/100 g min であり、energy failure には陥っていなかった可能性も考えられた。ネコを用いた実験では、虚血時、実験Ⅱと同様にエネルギー代謝の低下が認められたにもかかわらず、血流再開後、全てに脳エネルギー代謝の改善を認めたことは、CoQ₁₀ が、電子伝達系の不可逆的な損傷をおさえる可能性が考えられた。しかし血流再開後、脳血液関門の損傷などによりおきる脳浮腫に対しては十分な効果は認められなかった。虚血中にマニトールなどの脳圧下降剤の投与や、人為的な高血圧で、脳血液還流圧をあげ、少しでも虚血病巣の rCBF を増加さす方法との併用が望ましいものと考えられた。

6. 超急性期脳虚血に対する外科的治療

急性期脳虚血に対する血行再建術は、種々に意見の分かれるところであるが、STA-MCA anastomosis などの超急性期血行再建術は、脳虚血発症後 6～10時間以内に行われることが多いようである³²⁾。このような場合にも、ネコ中大脳動脈2時間遮断モデルのように、energy failure が長く続き、不可逆的な変化が生じた場合には、脳血流再開は、その効果が期待できず、かえって酸素供給による free radical の生成や、脳浮腫の増強をきたし、超急性期であっても症状を悪化させる可能性が強いのではないかと考えられた。しかし、電気生理学的な機能は停止しているが、ある程度脳エネルギー代謝が保たれている“ischemic penumbra”と考えられるような状態であれば、たとえ発症後10時

間以上経過していても、機能の回復は十分に期待できるものと思われる。Proton NMR CT, ³¹P NMR, positron emission CT などの導入により、脳浮腫、脳エネルギー代謝、rCBF, CMRO₂, oxygen extraction fraction (OEF)などを測定することにより、急性期脳虚血症例の中で、急性期外科的治療の適応可能な症例を判別することが可能になると考えられ、またこれらの装置は、診断および治療効果の判定に威力を発揮するものと思われた。

脳保護物質により、energy failure おきる閾値の rCBF を低下させたり、人為的高血圧により虚血組織の rCBF を増加させることにより、脳虚血に対する超急性期外科的治療は、さらに理論的補強ができ、臨床応用の可能性が広がると考える。この方面をも今後とも検討して行きたい。

結 語

サルでは、2時間の中大脳動脈閉塞により脳梗塞に陥る rCBF の閾値は約 10 ml/100 g min であった。

ネコを用いた脳虚血および血流再開における脳エネルギー代謝の連続測定の結果、虚血時脳エネルギーの低下が生じた時、1時間で血流再開すれば、エネルギー代謝は回復したが、2時間続けば不可逆的な変化が生じていた。脳血流量低下による脳エネルギー代謝の低下が2時間以上続いた時、脳血流再開は無効であり、脳浮腫を増強し病態の悪化をきたすことが考えられた。

急性期脳虚血における不可逆的な変化の発生を人為的に遅らせるために投与した CoQ₁₀ は、血流再開後のエネルギー代謝を改善させる効果を認めた。

Proton NMR CT を用いて、ラット中大脳動脈2時間遮断後の脳浮腫を測定した。血流再開後虚血部の水分は増加し、4～6時間後に最大になるものと考えられた。2時間虚血のネコの脳浮腫による死亡時期と一致した。

急性期脳梗塞患者で、超急性期血行再建術により症状の改善が期待できるのは、脳機能は停止しているが、脳エネルギー代謝が比較的保たれていわゆる“ischemic penumbra”の状態の時と考えられる。脳血流低下による脳エネルギー代謝の低下が2時間以上続いた時は、6～8時間の超急性期といえども無効であるばかりでなく、脳浮腫を増強するものと考えられる。

稿を終えるに臨み御指導、御校閲を賜りました 恩師半田肇教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、終始御討論、御鞭撻を戴きました 米川泰弘助教授に深謝致します。また快く実験の場を与えて下さいました 岡崎国立共同研究機構生理学研

究所 亘 弘教授, 京都大学理学部物理学教室 端 恒夫教授に感謝致します。

最後に, 実験を手伝っていただいた滝和郎博士, 鳴尾好人博士, 山形専博士, 小林映学兄, NMRの測定をしていただいた安里令人博士, 上田徹学兄に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Ackerman JJH, Grove TH, et al: Mapping of metabolites in whole animals by ^{31}P NMR using surface coils. *Nature* **283**: 167-170, 1980.
- 2) Asato R, Handa H, et al: Chronological sequences and blood-brain barrier permeability changes in local injury as assessed by nuclear magnetic resonance (NMR) images from sliced rat brain. *Stroke* **14**: 191-197, 1983.
- 3) Astrup J, Siesjö BK, et al: Thresholds in cerebral ischemia—The ischemic penumbra. *Stroke* **12**: 723-725, 1981.
- 4) Branstom NM, Symon L, et al: Relationship between the cortical evoked potential and local cortical blood flow following acute middle cerebral artery occlusion in the baboon. *Exp Neurol* **45**: 195-208, 1974.
- 5) Branstom NM, Strong AJ, et al: Extracellular potassium activity, evoked potential and tissue blood flow: Relationship during progressive ischaemia in baboon cerebral cortex. *J Neurol Sci* **32**: 305-321, 1977.
- 6) Chance B, Eleff S, et al: Phosphorus NMR. In *Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Imaging* edited by Partin CL, et al., WB Sanders Company, 1983, 399-445.
- 7) Crowell RM, Olsson Y, et al: Temporary occlusion of the middle cerebral artery in the monkey: Clinical and pathological observations. *Stroke* **1**: 439-448, 1970.
- 8) Crowell RM and Olsson Y: Atraumatic focal cerebral ischemia in monkeys. In *Cerebral Circulation and Metabolism* edited by Langfitt T. New York, Springer, 1975.
- 9) Diaz FG and Ausman JI: Experimental cerebral ischemia. *Neurosurgery* **6**: 436-445, 1980.
- 10) Doyle TF, Martins AN, et al: Estimating total cerebral ischemia from the initial slope of hydrogen washout curves. *Stroke* **6**: 149-152, 1975.
- 11) 藤田雄三, 松永守雄, 他: ラジカルスカベンジャーによる脳浮腫の予防, 脳虚血と細胞障害, 佐野圭司, 半田 肇, にゅーろん社 1980, p. 178-183.
- 12) Ginsberg M, Reivich M, et al: Pyrimidine nucleotide redox state and blood flow of the cerebral cortex following middle cerebral artery occlusion in the cat. *Stroke* **7**: 125-131, 1976.
- 13) Hayakawa T and Waltz AG: Immediate effects of cerebral ischemia: Evolution and resolution of neurological deficits after experimental occlusion of one middle cerebral artery in conscious cat. *Stroke* **6**: 321-327, 1975.
- 14) Heiss WD, Hayakawa T, et al: Cortical neural function during ischaemia. *Arch Neurol* **33**: 813-820, 1976.
- 15) Hudgins WR and Garcia JH: Transorbital approach to the middle cerebral artery of the squirrel monkey: A technique for experimental cerebral infarction applicable to ultrastructural studies. *Stroke* **1**: 107-111, 1970.
- 16) Jöbsis FF, O'Conner M, et al: Intracellular redox changes in functioning cerebral cortex. I. Metabolic effects of epileptiform activity. *J Neurophysiol* **34**: 735-749, 1971.
- 17) Jones TH, Morawetz RB, et al: Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg* **54**: 773-782, 1981.
- 18) Kamijo Y, Garcia J, et al: Temporary regional ischemia in the cats. *J Neuropath Exp Neurol* **36**: 338-350, 1977.
- 19) 小暮久也: 血行再建と脳のエネルギー代謝. 脳神経外科 **8**: 313-329, 1980.
- 20) Levine S and Payan H: Effects of ischaemia and other procedures in the brain and retina of the gerbil. *Exp Neurol* **16**: 255-262, 1966.
- 21) Levine S and Sohn D: Cerebral ischaemia in infant and adult gerbils. *Arch pathol* **87**: 315-317, 1969.
- 22) Levy DE, Brierley JB, et al: Ischemic brain damage in the gerbil in the absence of "non-reflow". *J Neurol Neurosurg Psychiatr* **38**: 1197-1205, 1975.
- 23) Levy DE and Duffy TE: Cerebral energy metabolism during transient ischemia and recovery in the gerbil. *J Neurochem* **28**: 63-70, 1977.
- 24) Ljunggren B, Ratchenson RA, et al: Cerebral metabolic state following compression ischemia. *Brain Research* **73**: 291-307, 1974.
- 25) Meyer JS, Shinohara Y, et al: Diaschisis resulting from acute unilateral cerebral infarction. *Arch Neurol* **23**: 241-247, 1970.
- 26) 三宅英則, 安里令人: レット2時間中大脳動脈遮断における局所脳血流量の変化と脳浮腫. 未発表データ
- 27) Molinari GF and Laurent JP: A classification of experimental models of brain ischemia. *Stroke* **7**: 14-17, 1976.
- 28) Mršulja BB, Djuricić BM, et al: Biochemistry of experimental ischemic brain edema. *Adv Neurol* **28**: 217-230, 1980.
- 29) Naruse S, Takada S, et al: In vivo ^{31}P NMR studies on experimental cerebral infarction. *Jap J Physiol* **33**: 19-28, 1983.
- 30) O'Brien MD and Waltz AG: Transorbital approach for occluding the middle cerebral artery

- without craniectomy. *Stroke* **4**: 201-206, 1973.
- 31) O'Brien MD, Waltz AG, et al: Ischemic cerebral edema. *Arch Neurol* **30**: 461-465, 1974.
- 32) Pulsinelli WA and Brierley JB: A new model of bilateral hemispheric ischaemia in the unanaesthetized rat. *Stroke* **10**: 267-272, 1979.
- 33) Ratchenson RA and Ferrendelli JA: Regional cortical metabolism in focal ischemia. *J Neurosurg* **52**: 755-763, 1980.
- 34) Rehncorna S, Mela L, et al: Recovery of brain mitochondrial function in the rat after complete and incomplete cerebral ischemia. *Stroke* **10**: 437-446, 1979.
- 35) 榊原常緑, 高木 偉, 他: 実験的脳虚血に対する抗酸化剤の効果. 脳虚血と細胞障害, 佐野圭司, 半田 肇, にゅーろん社 1980, p. 166-171.
- 36) Sundt TM, Sharbrough PW, et al: Cerebral blood flow measurements and electroencephalograms during carotid endarterectomy. *J Neurosurg* **41**: 310-320, 1974.
- 37) Tamura A, Graham DI, et al: Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metabol* **1**: 53-60, 1981.
- 38) 田村 晃, 佐野圭司: 脳虚血における血流再開の意義—脳局所血流量と組織傷害の関連—. *脳神経* **31**: 1005-1015, 1979.
- 39) Thulborn KR, du Boulay GH, et al: A ^{31}P nuclear magnetic resonance in vivo study of cerebral ischaemia in the gerbil. *J Cereb Blood Flow Metabol* **2**: 299-306, 1982.
- 40) 米川泰弘: 急性期脳梗塞の外科的治療. 日本外科学会雑誌 第80回 1979, 1602-1606.
- 41) 米川泰弘, 半田 肇: 閉塞性脳血管障害の外科的治療. *脳神経* **32**: 239-255, 1980.
- 42) Welsh FA, Ginsberg MD, et al: Diffuse cerebral ischemia in the cat: II. Regional metabolites during severe ischemia and recirculation. *Ann Neurol* **3**: 493-501, 1978.